



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0307136-7 A**

(22) Data de Depósito: 16/05/2003
(43) Data de Publicação: **13/06/2006**
(RPI 1849)



(51) Int. Cl.⁷.:
A01H 3/04
C11B 9/00

(54) Título: **PROCESSO PARA AUMENTAR A PORCENTAGEM DE GERANIOL E NEROL NO ÓLEO ESSENCIAL DE MELISSA OFFICINALIS**

(71) Depositante(s): Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ (BR/RJ)

(72) Inventor(es): Rosane Aguiar da Silva San Gil, Simone da Silva, Alice Sato, Débora de Almeida Azevedo, Maria Aparecida Esquibel, Celso Luiz Salgueiro Lage

(57) Resumo: "PROCESSO PARA AUMENTAR A PORCENTAGEM DE GERANIOL E NEROL NO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melissa officinalis*". A presente invenção prevê processo para aumentar a proporção de geraniol e nerol no óleo essencial de *Melissa officinalis*. As plantas cultivadas in vitro, em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescidos de diferentes combinações de citocininas e auxinas, apresentaram aumento significativo nas concentrações de nerol e geraniol no óleo essencial, quando comparadas com as plantas não tratadas com reguladores de crescimento.

PROCESSO PARA AUMENTAR A PORCENTAGEM DE GERANIOL E NEROL
NO ÓLEO ESSENCIAL DE *MELISSA OFFICINALIS*.

O presente invento provê processos para o aumento no rendimento, ou seja
porcentagem, de componentes específicos, ou seja substâncias constituintes do óleo
5 essencial de plantas da espécie *Melissa officinalis*.

O óleo essencial de *Melissa officinalis* é de interesse farmacológico por
apresentar propriedades antioxidantes, sedativas, anti-espasmódica, bacteriostática e
anti-virótica. Além do interesse farmacológico, o óleo essencial de *Melissa officinalis*
tem seus componentes utilizados em aditivos de alimentos, cosméticos, inseticidas e
10 repelentes de insetos. Entre os principais constituintes ativos do óleo essencial de
Melissa officinalis encontram-se o geraniol e o nerol.

A cultura *in vitro* de plantas permite avaliar o desempenho das culturas sob
diferentes condições, de tal forma que é possível avaliar o papel de diferentes agentes
sobre diferentes aspectos da fisiologia e desenvolvimento vegetal. Assim sendo, é
15 possível trabalhar com quantidade significativa de plantas, em espaço limitado, e em
tempo relativamente curto quando comparado às condições de cultivo em campo. A
cultura *in vitro* também possibilita a multiplicação clonal de plantas em tempo bem mais
curto, e por isso mesmo é utilizada como ferramenta importante na biotecnologia
vegetal. A invenção está baseada no conhecimento de que tecidos organogênicos
20 propagados em cultura podem ser induzidos à síntese de metabólitos secundários e na
seleção de clones elites.

Dentre as vantagens do uso da cultura *in vitro* de plantas para desenvolvimento
de métodos e processos que possibilitem a produção, ou o aumento da produção, de

uma ou mais substâncias de interesse industrial, podem-se enumerar:

1- A possibilidade de se trabalhar com número estatisticamente significativo de plantas de um único clone genético obtido através da micropropagação.

2- Os experimentos serem realizados em pequeno espaço físico quando comparados aos experimentos de campo.

3- O tempo de desenvolvimento das plantas *in vitro* ser significativamente mais curto que em campo.

4- Todas as condições de cultivo serem controladas, entre elas: iluminação, nutrição, temperatura.

10 Pelas plantas trabalhadas serem geneticamente idênticas (ver item 1 acima) pode-se eliminar a interferência da variabilidade genética nos resultados. Pelo fato das plantas estarem sob condições controladas, onde é mantida a mesma condição ambiental para todas (ver item 4), pode-se ter a certeza que todos os resultados obtidos foram consequência das variáveis introduzidas no processo pelo experimentador.

15 Reguladores de crescimento vegetal são substâncias que apresentam efeitos hormonais quando aplicadas em plantas. Tais substâncias compreendem os hormônios vegetais com ocorrência natural na própria planta, e outras substâncias que não estão naturalmente presentes no reino vegetal, mas apresentam nas plantas ações hormonais. Os reguladores de crescimento vegetal têm ampla utilização em culturas vegetais, tanto
20 *in vitro*, quanto em campo. Em cultura *in vitro* os reguladores de crescimento podem ser utilizados para induzir diferenciação e/ou proliferação celular, alongamento, induzir diferenciação de tecidos e órgãos, bem como de metabólitos secundários. Em campo, podem ser utilizados para interferir em processos de interesse agrônômico, que podem

ser de caráter reprodutivo, retardar ou acelerar senescência, aumentar a produção de frutos, retardar abscisão de frutos, melhorar forma de frutos, produzir uvas sem sementes, entre outras finalidades.

O presente invento utilizou a cultura *in vitro* de plantas monoclonais, de *Melissa*
5 *officinalis* para determinar combinações de reguladores de crescimento vegetal que sejam eficientes para aumentar o rendimento de substâncias ativas, de interesse industrial, no óleo essencial de *Melissa officinalis*. Além de aumentar a porcentagem de geraniol e nerol, no óleo essencial de *Melissa officinalis* os agentes utilizados no tratamento das plantas devem agir sem interferência negativa sobre o desenvolvimento das plantas, e
10 também devem agir, sem interferência negativa sobre a produção total de óleo essencial.

Os desenhos anexos mostram os constituintes, tempos de retenção, área absoluta e área relativa, relativos à análise dos óleos essenciais da *Melissa officinalis in vitro* em presença e ausência de reguladores de crescimento.

O quadro 1 mostra a composição (em porcentagem do óleo essencial de *Melissa*
15 *officinalis*, cultivada *in vitro*, por 60 dias em MS.

O quadro 2 mostra a composição (em porcentagem) do óleo essencial de *Melissa officinalis*, cultivada *in vitro*, em MS+11,42 μ M de AIA, por 60 dias.

O quadro 3 mostra a composição (em porcentagem) do óleo essencial de *Melissa officinalis*, cultivada *in vitro*, em MS+8,87 μ M de BAP, por 60 dias.

20 O quadro 4 mostra a composição (em porcentagem) do óleo essencial de *Melissa officinalis*, cultivada *in vitro*, em MS+11,42 μ M de AIA + 8,87 μ M de BAP, por 60 dias.

O presente invento provê processos para o aumento no rendimento, ou seja

porcentagem, de componentes específicos, ou seja substâncias constituintes do óleo essencial de plantas da espécie *Melissa officinalis*. Mais preferencialmente as substâncias com rendimento aumentado, ou seja, porcentagem aumentada no óleo essencial compreendem o nerol e o geraniol. No processo são utilizáveis agentes químicos aplicados de forma a serem captados pelas plantas.

Os agentes químicos utilizáveis na prática da presente invenção compreendem moléculas classificadas segundo sua ação biológica, como reguladores de crescimento vegetal. Mais preferencialmente, os reguladores de crescimento vegetal utilizáveis na presente invenção compreendem reguladores de crescimento vegetal da classe das citocininas e das auxinas. Mais preferencialmente, a substância da classe das citocininas utilizável na presente invenção compreende a 6 – benzilaminopurina, doravante denominada 6-BAP. Mais preferencialmente a substância da classe das auxinas compreende o ácido-3-indolacético doravante denominado AIA. As citocininas e auxinas utilizáveis na presente invenção podem ser aplicadas isoladamente ou combinadas entre si, ou com outras substâncias que possam ser aplicadas às plantas com diferentes finalidades. Outras substâncias com atividade reguladora de crescimento vegetal de diferentes classes podem ser utilizadas, visando produzir resultados similares aos apresentados na presente invenção.

Os requerentes revelaram que as plantas de *Melissa officinalis*, desenvolvidas em presença de 6-BAP, apresentam aumento de 95 % na proporção de nerol no óleo essencial e, 33 % na proporção de geraniol no óleo essencial. As plantas de *Melissa officinalis*, desenvolvidas na presença de AIA, apresentam aumento de 17 % na proporção de geraniol do óleo essencial e de 68 % na proporção de nerol no óleo

essencial. As plantas desenvolvidas, na presença da combinação dos tratamentos com 6-BAP e AIA, apresentam aumento de 113 % na proporção de nerol do óleo essencial e de 49 % na proporção de geraniol no óleo essencial.

Os requerentes revelaram que não houve interferência negativa de nenhum dos tratamentos citados sobre a taxa de crescimento das plantas tratadas em relação àquelas que não foram tratadas com os reguladores de crescimento. Os requerentes também revelaram que não houve redução na quantidade absoluta de óleo essencial produzida pelas plantas de *Melissa officinalis* submetidas aos processos da presente invenção. Os requerentes também revelaram que a aplicação de 6-BAP e AIA, isoladamente ou combinados, aumentou a produção absoluta de óleo essencial, além de propiciar maior acúmulo de biomassa pelas plantas de *Melissa officinalis* quando em comparação com àquelas que não foram tratadas com reguladores de crescimento.

Os requerentes revelaram que os reguladores de crescimento vegetal utilizáveis na presente invenção podem ser utilizados em ampla faixa de concentrações, de tal forma que o AIA (ácido-3-indolacético) pode ter sua concentração de aplicação variando de 4,0 μM a 50,0 μM , sendo as concentrações de 7,0 μM a 17,0 μM as que apresentam melhores resultados, ficando a concentração ótima próxima de 11,4 μM . A faixa de concentração de 6-BAP (6-benzilaminopurina) utilizável na presente invenção varia de 1,0 μM a 28,0 μM , sendo as concentrações de 4,5 μM a 14,0 μM as que apresentam melhores resultados, ficando a concentração ótima próxima de 8,9 μM . Os requerentes revelaram que as faixas de concentrações, bem como as concentrações ótimas citadas no presente documento de patente, compreendem a aplicação dos reguladores de crescimento vegetal *in vitro* incorporados ao meio de cultura, no qual as plantas

permanecem em desenvolvimento por período de 60 dias.

A aplicação dos reguladores de crescimento utilizáveis na presente invenção pode ser feita de várias formas conhecidas do atual estado da técnica tais como: aplicação foliar, preferencialmente feita através de aspersão dos reguladores de crescimento em solução, que pode ser aquosa, ou utilizar qualquer outro solvente utilizável no atual estado da técnica ou que ainda venha a ser inventado sobre a estrutura foliar das plantas; aplicação direta no solo num curto raio, de 0 cm a 30 cm de distância da base do caule das plantas, ou em solução nutriente no caso de culturas hidropônicas; ou através de incorporação ao meio de cultura no caso de cultivo *in vitro*. A aplicação pode ser contínua ao longo do tempo da cultura, como por exemplo no caso da cultura *in vitro*, ou aplicado durante todo o tempo de cultura ou apenas no período próximo à época da colheita, sendo aplicado pelo menos três dias antes da colheita, no caso das culturas de campo e hidropônicas.

Os exemplos a seguir demonstram a eficiência do processo, mas o processo apresentado na presente descrição de invento não está restrito a eles.

Exemplo 1:

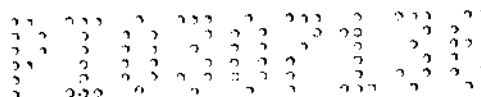
Utilização do ácido-3-indolacético (AIA) para aumentar o rendimento (porcentagem) *in vitro*, do geraniol e do nerol no óleo essencial de *Melissa officinalis*.

Plantas de *Melissa officinalis* foram obtidas a partir de sementes germinadas *in vitro* em meio segundo Murashige e Skoog, 1962 (MS), após processo de esterilização química da superfície da semente já conhecida do estado da técnica. Após a germinação, as plantas foram multiplicadas *in vitro* através do processo de micropropagação de segmentos nodais. As plantas obtidas através do processo de micropropagação tiveram

seus segmentos nodais excisados, após a extração de folhas e raízes. Os segmentos nodais assim obtidos foram transferidos para meio MS, preparado e esterilizado conforme procedimentos padrão do atual estado da técnica, nas seguintes condições: 1- MS sem adição de reguladores de crescimento e; 2- MS com adição de AIA na
5 concentração final de $11,42 \mu\text{M}$. As culturas foram mantidas à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com iluminação de $24 \mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas. Após 60 dias, os frascos de cultura foram abertos e as plantas utilizadas para extração de óleo essencial. Durante todo os sessenta (60) dias do processo, as plantas tiveram seu crescimento avaliado, levando-se em conta a altura das plantas, o número de novos brotos, e a produção de
10 biomassa pelo acúmulo final de peso fresco da parte aérea completa, ou seja, caule, folhas e pecíolo, com o ápice incluído. A parte aérea completa foi utilizada para extração de óleo essencial segundo o seguinte procedimento:

Os óleos essenciais da parte aérea (folhas frescas e caule) foram extraídos por hidrosdestilação, em aparelho tipo Clevenger, utilizando 100 g de material vegetal por
15 um período de 1,4 horas.

A análise da composição do óleo essencial de *Melissa officinalis* foi determinada através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), equipada com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25 mm); $df = 0,25 \mu\text{M}$, utilizando gás hélio como carreador. Foram injetadas alíquotas de $1,0 \mu\text{L}$ do óleo
20 destilado, diluído em hexano. O detector e o injetor se mantiveram a 280°C . A temperatura do forno teve início a 40°C , isoterma por 1 minuto, seguida de aquecimento com taxa de 50°C/min até atingir 220°C .



A identificação dos constituintes químicos foi realizada através de análise comparativa do espectro de massas das substâncias com aqueles do banco eletrônico de espectros de massas (Wiley 27S) e pelo tempo de retenção. A quantificação foi feita pela porcentagem relativa das áreas dos sinais por CG/DIC.

- 5 A tabela 1 apresenta a composição do óleo essencial de *Melissa officinalis*, crescida *in vitro*, em meio de cultura MS sem adição de reguladores de crescimento.

Exemplo 2:

Utilização da 6-benzilaminopurina (BAP) para aumentar o rendimento (porcentagem) *in vitro*, do geraniol e do nerol no óleo essencial de *Melissa officinalis*.

- 10 Plantas de *Melissa officinalis* foram obtidas a partir de sementes germinadas *in vitro* em meio MS, após processo de esterilização química da superfície da semente já conhecida do estado da técnica. Após a germinação, as plantas foram multiplicadas *in vitro*, através do processo de micropropagação de segmentos nodais. As plantas obtidas através do processo de micropropagação tiveram seus segmentos nodais excisados, após
- 15 a extração de folhas e raízes. Os segmentos nodais assim obtidos foram transferidos para meio MS, preparado e esterilizado conforme procedimentos padrão do atual estado da técnica, nas seguintes condições: 1- MS sem adição de reguladores de crescimento e; 2- MS com adição de BAP na concentração final de 8,87 μM . As culturas foram mantidas à temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, com iluminação de $24 \mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16
- 20 horas. Após 60 dias, os frascos de cultura foram abertos e as plantas utilizadas para extração de óleo essencial. Durante todo os sessenta (60) dias do processo as plantas tiveram seu crescimento avaliado, levando-se em conta a altura das plantas, o número de novos brotos, e a produção de biomassa pelo acúmulo final de peso fresco da parte aérea

completa, ou seja, caule, folhas e pecíolo, com o ápice incluído. A parte aérea completa foi utilizada para extração de óleo essencial segundo o seguinte procedimento:

Os óleos essenciais da parte aérea (folhas frescas e caule) foram extraídos por hidrosdestilação, em aparelho tipo Clevenger, utilizando 100 g de material vegetal por
5 um período de 1,4 horas.

A análise da composição do óleo essencial de *Melissa officinalis* foi determinada em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) equipada com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25 mm); $df = 0,25 \mu m$, utilizando gás hélio como carreador. Foram injetadas alíquotas de 1,0 μL do óleo destilado, diluído em
10 hexano. O detector e o injetor se mantiveram a 280 °C. A temperatura do forno teve início a 40 °C, isoterma por 1 minuto seguida de aquecimento com taxa de 50 °C/min até atingir 220° C.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada através de análise comparativa do espectro de massas das substâncias com aqueles do banco eletrônico de
15 espectros de massas (Wiley 27S) e pelo tempo de retenção. A quantificação foi feita pela porcentagem relativa das áreas dos sinais por CG/DIC.

A tabela 1 apresenta a composição do óleo essencial de *Melissa officinalis*, crescida *in vitro*, em meio de cultura MS sem adição de reguladores de crescimento.

Exemplo 3:

20 Utilização do ácido-3-indolacético (AIA) em combinação com 6-benzilaminopurina para aumentar o rendimento (porcentagem) *in vitro* do geraniol e do nerol no óleo essencial de *Melissa officinalis*.

Plantas de *Melissa officinalis* foram obtidas a partir de sementes germinadas *in*

15

20

A análise da composição do óleo essencial de *Melissa officinalis* foi determinada através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) equipada com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25 mm); $df = 0,25 \mu m$, utilizando gás hélio como carreador. Foram injetadas alíquotas de 1,0 μL do óleo

destilado, diluído em hexano. O detector e o injetor se mantiveram a 280 °C. A temperatura do forno teve início a 40 °C, isoterma por 1 minuto seguida de aquecimento com taxa de 50 °C/min até atingir 220° C.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada através de análise comparativa do espectro de massas das substâncias com aqueles do banco eletrônico de espectros de massas (Wiley 27 S) e pelo tempo de retenção. A quantificação foi feita pela porcentagem relativa das áreas dos sinais por CG/DIC.

A tabela 1 apresenta a composição do óleo essencial de *Melissa officinalis*, crescida *in vitro*, em meio de cultura MS sem adição de reguladores de crescimento.

Referências Citadas

- ABOUNANDOUR, A. A., VANDENBERG, T., CZYGAN, F. C. – 1997 – Regeneration of plants and production of volatiles from callus – cultures of *Melissa officinalis* L. Effect of exogenous growth regulators on organogenesis of tissue cultures and characterization of the essential oil from plant regenerates. Angewandte Botanik 68: 163-167.
- ADZET, T.; PONZ, R.; WOLF, E.; SCHULTE, E. - 1992 – Content and composition of *Melissa officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time. Planta Med. 58: 562-564.
- ENJALBERT, F., BESSIÈRE, J. M., PELLECUER, J., PRIVAT, G., DOUCET, G. – 1983 - “Analyse des essences de mélisse”. Fitoterapia 54: 59-65.
- MURASHIGE, T. e SKOOG, F. - 1962 – A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15: 473-497

Quadro Reivindicatório:

1. Processo para aumentar a proporção de monoterpenos específicos no óleo essencial de plantas, caracterizado pela aplicação de reguladores de crescimento vegetal na planta produtora do óleo essencial.
- 5 2. Processo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pela planta produtora de óleo essencial em particular ser a espécie *Melissa officinalis*.
3. Processo de acordo com a reivindicação 1 e 2 caracterizado pela substância a ter a proporção aumentada no óleo essencial ser o geraniol.
4. Processo de acordo com a reivindicação 1 e 2 caracterizado pela substância a ter a
10 proporção aumentada no óleo essencial ser o geranial.
5. Processo de acordo com a reivindicação 1 e 2 caracterizado pela substância a ter a proporção aumentada no óleo essencial ser o nerol.
6. Processo de acordo com a reivindicação 1 e 2 caracterizado pela substância a ter a proporção aumentada no óleo essencial ser o neral.
- 15 7. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 4 caracterizado pelos reguladores de crescimento utilizados serem da classe das auxinas na concentração final variando de 4,0 a 50,0 μM .
8. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 5 caracterizado pelo regulador de crescimento da classe das auxinas utilizado ser o ácido-3-indolacético na
20 concentração final variando de 4,0 a 50,0 μM .
9. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 4 caracterizado pelos reguladores de crescimento utilizados serem das classes das citocininas na concentração final variando de 1,0 a 28 μM .

10. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 4 e 7 caracterizado pelo regulador de crescimento da classe das citocininas utilizados ser a 6-benzilaminopurina na concentração final variando de 1,0 a 28 μM .
11. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 8 caracterizado pelo uso combinado de reguladores de crescimento das classes das auxinas na concentração final variando de 4,0 a 50,0 μM e das citocininas na concentração final variando de 1,0 a 28,0 μM .
12. Processo de acordo com a reivindicação 1 a 9 caracterizado pelo uso combinado dos reguladores de crescimento ácido-3-indolacético na concentração final variando de 4,0 a 50,0 μM e da 6-benzilaminopurina na concentração final variando de 1,0 a 28,0 μM .

Quadro 1

Constituintes	Tempo de Retenção	área absoluta	área relativa (%)
Beta-myrceno	6,144	0,877	0,95
linalol	9,642	0,314	0,34
4,5-dimetil-2,6-octadieno	11,117	1,281	1,38
pulegona	11,799	1,329	1,43
pujona	12,419	2,897	3,13
nerol	13,95	1,738	1,87
neral	14,325	29,375	31,70
geraniol	14,881	14,173	15,30
geranial	15,355	40,450	43,64
Trans-cariofileno	20,073	0,254	0,27
		92,687	100,01

Quadro 2

Constituintes	Tempo de Retenção	área absoluta	área relativa (%)
beta-myrceno	6,188	0,531	0,55
Linalol	9,708	0,244	0,25
4,5-dimetil-2,6-octadieno	11,196	0,904	0,94
Pulegona	11,881	1,025	1,06
Pujona	12,506	1,878	1,95
Nerol	14,063	3,034	3,15
Neral	14,522	28,795	29,90
Geraniol	15,085	17,270	17,92
Geranial	15,589	41,520	43,09
3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila	17,282	0,548	0,57
acetato de geranila	19,267	0,318	0,33

trans-cariofileno	20,179	0,301	0,31
		96,367	100,02

Quadro 3

Constituintes	Tempo de Retenção	área absoluta	área relativa (%)
beta-myrceno	6,151	0,823	0,87
Linalol	9,658	0,371	0,39
2,6-octadieno, 4,5-dimetil	11,139	0,803	0,85
Pulegona	11,823	0,959	1,01
Pujona	12,443	1,838	1,95
Nerol	13,979	3,441	3,65
Neral	14,408	28,760	30,48
Geraniol	14,959	19,255	20,4
Geranial	15,458	37,326	39,56
3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila	17,209	0,259	0,27
acetato de geranila	19,198	0,364	0,38
trans-cariofileno	20,104	0,166	0,17
		94,364	99,99

Quadro 4

Constituintes	Tempo de Retenção	área absoluta	área relativa (%)
beta-myrceno	6,213	0,630	0,66
Linalol	9,722	0,325	0,34
4,5-dimetil-2,6-octadieno,	11,207	0,628	0,66
Pulegona	11,889	0,780	0,82
Pujona	12,51	1,390	1,46
Nerol	14,047	3,805	3,99

00007138

Neral	14,467	28,219	29,59
Geraniol	15,024	21,819	22,88
Geranial	15,516	37,006	38,80
3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila	17,280	0,331	0,35
acetato de geranila	19,268	0,237	0,25
trans-cariofileno	20,177	0,200	0,21
		95,368	100,01

Resumo:

“PROCESSO PARA AUMENTAR A PORCENTAGEM DE GERANIOL E
NEROL NO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melissa officinalis*” A presente invenção provê
processo para aumentar a proporção de geraniol e nerol no óleo essencial de *Melissa*
5 *officinalis*. As plantas cultivadas *in vitro*, em meio MS (Murashige e Skoog, 1962)
acrescidos de diferentes combinações de citocininas e auxinas, apresentaram aumento
significativo nas concentrações de nerol e geraniol no óleo essencial, quando
comparadas com as plantas não tratadas com reguladores de crescimento.